

Embryonal utveckling hos grodor med dygnsgrader som förklarande faktor

Embryonic development of anurans with growing degree-days as an explanatory factor

Pontus Eriksson



Foto: Pontus Eriksson

Kandidatarbete • 15 hp • Grundnivå, G2E
Kandidatprogrammet Biologi och miljövetenskap
Uppsala 2017

Självständigt arbete/Examensarbete/SLU, Institutionen för ekologi 2017:19

Embryonal utveckling hos grodor med dygnsgrader som förklarande faktor

Embryonic development of anurans with growing degree-days as an explanatory factor

Pontus Eriksson

Handledare: Göran Hartman, SLU Uppsala.
Institutionen för ekologi

Examinator: Peter Torstensson, SLU Uppsala.
Institutionen för ekologi

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: Grundnivå, G2E

Kurstitel: Självständigt arbete i biologi

Kurskod: EX0689

Program/utbildning: Kandidatprogrammet Biologi och miljövetenskap

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2017

Omslagsbild: Äggsamling, *Rana temporaria*. Pontus Eriksson

Serietitel: Självständigt arbete/Examensarbete/SLU, Institutionen för ekologi

Löpnummer: 2017:19

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: Rana temporaria, vanlig groda, dygnsgrader, embryonal utveckling, temperatur, bastemperatur

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för naturresurser och jordbruksvetenskap
Institutionen för ekologi

Sammanfattning

Dygnsgrader ($^{\circ}\text{D}$) används för att förklara den fysiologiska tiden som krävs för att uppnå olika livsstadier. Det används för fisk för att förklara den embryonala utvecklingen, växter för att uppnå t.ex. blomning och för insekter för att förklara kläckningsmönster. Denna studie undersöker om dygnsgrader kan appliceras på grodor med vanlig groda (*Rana temporaria*) som modellorganism. Temperaturmätningar gjordes varannan dag med maximum- och minimumtemperaturer i vatten och interpolerades för att få en översiktlig temperaturkurva. Denna kurva integrerades sedan då dygnsgrader är ackumulerade temperaturer under flera dagar. Dygnsgrader har mindre varians än dagbaserade uträkningar, därför är det viktigt att undersöka om dygnsgrader kan appliceras på grodor. Studien genomfördes i Uppsala, Uppland på fem olika lokaler och innefattade 20 olika äggsamlingar. Resultat från denna studie jämfördes även mot två andra studier för att undersöka om dygnsgrader fungerar för andra groddjur än arten vanlig groda. Det var en kall vår med isbildning på flera av vattenkropparna. Isbildningen medförde att vattentemperaturerna var för låga, den embryonala utvecklingen avstannade då i ca: fem dagar för de som överlevde. Variationskoefficienten för dagbaserad uträkning var 18 %. Medelvärdet av dygnsgrader för alla äggsamlingar var $133,60 \pm 22,65$, $c_v = 17\%$. Medelvärdet för äggsamlingar exkluderat ispåverkade var $131,21 \pm 17,88$ $^{\circ}\text{D}$ $c_v = 14\%$. En förenklad uträkning av dygnsgrader gjordes för att jämföra med två andra studier: $\text{temperatur}_{\text{Medel}} \times \text{dagar}_{\text{Medel}} = \text{dygnsgrader}$. Med denna uträkning fattas det 4°C i föreliggande studie för att dygnsgrader ska hamna på samma nivå som de andra två studierna. Det kan bero på mätfel t.ex. temperaturgivarna var för långt ned i vattnet eller att den teoretiska bastemperaturen inte stämmer. Medeltemperaturen i denna studie var 8°C och variansen för dygnsgrader var 22,64 vilket ger en variation på ca: tre dagar. En av dessa dagar var en följd av svårigheter att bestämma vilket utvecklingsstadie grodorna var i fält. Denna studie fann att dygnsgrader för grodor kan användas som en förklarande faktor för den embryonala utvecklingen då formeln som användes för att räkna ut dygnsgrader gav mindre variation än den dagbaserade, $c_v = 14\%$ respektive 18 %. Variansen för de exkluderade dygnsgraderna var lägre än de korrigerade dygnsgraderna vilket indikerar att bastemperaturen som användes inte är korrekt. Framtida studier bör fokusera på att ta reda på bastemperaturen för vanlig groda för att kunna använda sig mer precist av dygnsgrader.

Nyckelord: vanlig groda, *Rana temporaria*, bastemperatur, dygnsgrader, temperatur, embryonal utveckling

Abstract

Growing degree-days ($^{\circ}\text{D}$) is used to explain the physiological time to achieve specific life history traits. It is used to explain the embryonic development in fish, time to reach flowering in plants, and to calculate hatching patterns in insects. The goal of this study is to investigate if growing degree-days can be applied to the embryonic development of anurans with the common frog (*Rana temporaria*) as the model organism. Maximum and minimum water temperatures were measured and collected every other day. These temperatures were interpolated to achieve an overall temperature curve. This temperature curve was integrated to get the physiological time in Growing Degree-Days (GDD). Since GDD have a smaller variance than calendar days, it is important to investigate if GDD could be applied to anurans. The study was performed in Uppsala city in the county of Uppland, Sweden. There were five study sites with a total of 20 egg clutches. To explore the possibility that GDD works on anurans in general and not just on the common frog; results from this study were compared to two other studies. It was a cold spring with ice formation on several of the water bodies. The ice formations gave rise to lysis of some egg clutches; however some clutches under the ice survived. The eggs that survived were delayed up to five days, due to the low temperatures. The coefficient of variation for calendar time based calculation was 18 %. The overall mean in growing degree days was 133.60 ± 22.65 , $c_v = 17 \%$ and the overall mean in growing degree-days excluding the clutches affected by ice was 131.21 ± 17.88 , $c_v = 14 \%$. A simplified calculation of growing degree-days was conducted for a comparison of studies: $\text{Temperature}_{\text{mean}} \times \text{Days}_{\text{mean}} = \text{Growing Degree-Days}$. This calculation showed that this study's mean temperature was 4°C lower than the corresponding two studies with reference to GDD. The difference is likely due to measurement errors, i.e. the temperature when the thermometers were placed too deep or the used base temperature was not correct. The mean temperature in this study was 8°C and the standard deviation of GDD was 22.64 which provide a variation of ca: three days. One of these days originates directly from difficulties in determining the development stage in the field. This study shows that growing degree-days can be used as an explanatory factor of the embryonic development of anurans, due to the coefficient of variation of calendar days that were corrected with the formula for GDD was lower than the uncorrected calendar days: 14 % respectively 18 %. The excluded GDD were however lower than the corrected GDD, which indicates that the base temperature that was used is not correct. Future studies should focus on finding out the true base temperature of the common frog; this will provide a more precise measurement of GDD in anurans.

Keywords: common frog, *Rana temporaria*, base temperature, growing degree-days, GDD, temperature, embryonic development

Innehållsförteckning

Sammanfattning 3

Abstract 4

Innehållsförteckning 5

Inledning 6

Metod 7

Studieområde 7

Datahantering 8

Resultat 10

Diskussion 15

Referenser 18

Bilaga 1: Lokaler 20

Inledning

Klimatet förändras, det finns en trend med globalt ökande temperaturer (IPCC 2007). Temperaturökningarna som sker påverkar arters utbredning och rikedom (Parmesan 1996). Den här ändringen i temperatur har också påvisat ändringar i fenologi. Strandpaddan (*Bufo calamita*) har i England förökats tidigare på året, vilket korrelerade med temperaturhöjningarna mellan åren 1977-1994 (Beebee 1995). Förändringen i fenologi var baserad på ägglägningsdatum. Förutom ändringar i ägglägningsdatum har även den embryonala utvecklingen hos groddjur påverkats av temperaturförändringar. I Colorado, U.S.A. studerades arten nordlig padda (*Bufo boreas*). Där såg de att kalla temperaturer retarderar utvecklingen hos äggen av nordlig padda (Carey *et al.* 2001).

Fenologiska modeller används för att förutse organismers utveckling, t.ex. från groning till blomning eller från ägg till kläckning. För att lättare använda sig av fenologiska modeller används fysiologisk tid. Begreppet fysiologisk tid är hur mycket värme en organism behöver för att utvecklas. Den fysiologiska tiden uttrycks ofta i enheten dygnsgrader, som är den ackumulerade temperaturen för en dag över en viss tid (GDD: °D: Growing Degree Days) (Zalom *et al.* 1983).

Konceptet värmeenheter i form av dygnsgrader implementerades år 1730 av Reaumur (McMaster & Wilhelm 1997). Dygnsgrader har därefter använts flitigt inom flera vetenskaper t.ex. växtfenologi (Cross & Zuber 1972).

Användningen av dygnsgrader är även applicerbart på insekter t.ex. hur många GDD som behövs för kläckning, det används för att veta när motåtgärder borde sättas in mot skadeinsekter (Johnson *et al.* 1994).

Det används även för fisk, en studie visade att variationskoefficienten (c_v) minskade hos öring rörande den embryonala utvecklingen när dygnsgrader användes istället för kalenderdagar. c_v minskade då från 44 % till 9,7 % (Gray 1928, Neuheimer & Taggart 2007). Även hos kungslax påvisas skillnader i c_v från 65 % till 7,8 % (Gray 1928, Alderice & Velsen 1978).

Då användningen av dygnsgrader fungerar inom växter, evertetrater och vissa ektoterma vertebrater kanske det går att applicera till groddjur också. Det finns 13 groddjur i Sverige och de är uppdelade i två ordningar: stjärtlösa groddjur och stjärtgroddjur (Bina *et al.* 2015). Vanlig groda (*Rana temporaria*) tillhör de stjärtlösa groddjuren och är den mest spridda grodan i Europa (Fog *et al.* 1997). Vanlig groda är en utmärkt modellorganism för denna studie då den är så pass spridd och kan överleva i heterogena habitat. Grodor i tempererade regioner parar sig ofta explosivt och tidigt på våren (Wells 1977). Enligt Bina *et al.* (2015) är antal dagar till kläckning för vanlig groda 9-13 dagar. Hanarna är först till vattensamlingen för att slåss om de bästa platserna som t.ex. nedsänkta grästuvor eller nordliga strandzoner. Väl på plats börjar hanarna spela, honorna kommer till vattensamlingen lite senare

och uppsöker sedan hanar passivt dvs. rör sig framåt mot den mest tilltalande hanen, väl framme vid vattnet väljer honorna aktivt den hanen med förväntad högst relativ fitness (Parker 1983).

Äggen befruktas och läggs direkt i vattensamlingen, ofta på samma plats som tidigare år och ofta samlade i en gemensam klump (Håkansson & Loman 2004, Loman 2016). Grodembryon genomgår 25 stadier innan de blir frisimmande och börjar äta (stadie 25 är herefter benämnt som kläckning), därefter genomgår de ytterligare 21 stadier tills de metamorfoserar (Gosner 1960).

I denna studie kommer jag att undersöka om dygnsgrader är applicerbart på grodors embryonala utveckling. Om dygnsgrader visar samma mönster för grodor som det gör för t.ex. fisk medför det att det blir ett mer exakt mått på den embryonala utvecklingen jämfört med att använda kalenderdagar. Det skulle medföra att långsiktiga övervakningar kan göras bättre och med eventuella tidsserier skulle grodor kunna användas som en naturlig indikator för t.ex. klimatförändringar eller miljögifter.

Metod

Studieområde

Studien var beroende av skilda lokaler med olika temperaturregimer för att få så stor variation som möjligt. Då alla äggsamlingar i studien kommer att ha unika ägglägningsdatum och temperaturer kommer en äggsamling räknas som ett fall oavsett lokal.

Studieområdena innefattade olika lokaler inom Uppsala, Uppsala kommun, Sverige.

Data om förekomst av vanlig groda införskaffades genom bland annat eftersökningar på www.Artportalen.se. Sökord var: *Rana arvalis*, *Rana temporaria*, *Lissotriton vulgaris* och *Triturus cristatus*. Dessa arter var med i sökningen dels för att de har liknande habitatkrav (Fog *et al.* 1997) och dels för att motverka missade uppgifter av vanlig groda dvs. tidiga eller sena rapporteringar. Sökningarna genomfördes mellan årtalen 2000-2016. Utöver det användes även olika kartverktyg för att hitta passande vatten med eventuell förekomst av vanlig groda. Det underlaget gav 25 lokaler som skulle undersökas.

Av 25 lokaler föll 20 lokaler bort pga. olika anledningar t.ex. ingen förekomst av vanlig groda eller svårigheter att nå äggsamlingarna. De kvarvarande fem lokalerna producerade 20 st. spatiotemporalt olika äggsamlingar (Tabell 1).

Termometrar placerades i den mest solexponerade delen av lokalen på ett lämpligt djup 10-20 cm. Om det redan fanns äggsamlingar i lokalen placerades de så nära som möjligt, helst i äggsamlingen. Om de ännu inte hade lekt placerades temperaturanoden där de förväntades leka. Lufttemperaturen mättes 10 cm över markskiktet/vattenytan i vattenbrynet.

Temperaturdata uppmättes och insamlades mellan den tredje april och den 23 maj 2017. Termometrarna lästes av varannan dag och temperaturerna interpolerades sedan. Interpoleringen utfördes för att få temperaturdata för alla dagar, då alla dagar är intressanta för integreringen av dygnsgrader. Lokal 1 och 2 hade hög solexponering samt låg i en beteshage i Gränby. Lokal 3, 4 och 5 hade en mindre solexponering, skillnad i vattenvolym och de låg i skogsmark i Stadsskogen (Bilaga 1: Lokaler, Karta 1). Kontrollen är mätstationen Uppsala Aut som mäter luftmedeltemperatur var dag två meter över marken, 13 m.ö.h (SMHI 2017). Kontrollstationen användes för att undersöka om temperaturerna som uppmättes i fält följer de generella temperaturfluktuationerna i landskapet. För mer information om lokalerna se Bilaga 1: Lokaler.

Tabell 1. Översikt av lokaler med habitatbeskrivning och antal unika äggsamlingar där siffrorna inom parenteser är äggsamlingar som inte uppnådde stadie 25 (kläcktes). Kontroll är mätstationen Uppsala Aut som användes för luftmedeltemperaturer.

Namn	X-koordinat	Y-koordinat	Habitat	Antal äggsamlingar
<i>Kontroll</i>	<i>59.8586</i>	<i>17.6253</i>	<i>-</i>	<i>-</i>
<i>Lokal 1</i>	<i>59.876607</i>	<i>17.667993</i>	<i>Högexponerad beteshage. Faunadepå.</i>	<i>5(2)</i>
<i>Lokal 2</i>	<i>59.875952</i>	<i>17.668844</i>	<i>Viss skugga, exponerad beteshage.</i>	<i>4(4)</i>
<i>Lokal 3</i>	<i>59.837986</i>	<i>17.626004</i>	<i>Liten, grund, skuggig skogsmark.</i>	<i>3(0)</i>
<i>Lokal 4</i>	<i>59.837353</i>	<i>17.626456</i>	<i>Stor, grund, halvexponerad skogsmark.</i>	<i>3(1)</i>
<i>Lokal 5</i>	<i>59.838377</i>	<i>17.624424</i>	<i>Stor, djup, halvexponerad skogsmark.</i>	<i>5(2)</i>
			<i>Summa /(Summa)</i>	<i>20(9)</i>

Datahantering

För att undersöka om de uppmätta temperaturerna är representativa, jämfördes de mot en kontroll. För att kunna plotta uppmätta temperaturer mot kontrolltemperaturer över studieperioden räknades medelvärden för vattentemperaturen ut för alla individuella äggsamlingar och lokaler. Ett

totalmedelvärde mellan lokalerna räknades även ut för vatten- och lufttemperatur $\times \text{dag}^{-1}$, t.ex. medeltemperatur_{22/4} = (medelvattentemperatur_{Lokal n} + medelvattentemperatur_{Lokal n+1..}) / n.

Dessa medeltemperaturer användes även senare i uträkandet av dygnsgrader. Den fysiologiska tiden dygnsgrader, räknas ut för enskilda äggsamlingar med unika lägningsdatum för lokalen enligt följande ekvation:

$$GDD = \sum_{\text{Stadie } 1}^{\text{Stadie } 25} \left(\frac{T_{\text{Max}} + T_{\text{Min}}}{2} \right) - T_{\text{Bas}}$$

GDD (dygnsgrader), fås genom integreringen mellan stadie 1 och stadie 25 som är antal dagar det har tagit för embryona kläckas. T_{Max} och T_{Min} är max- och mintemperaturen för dagen och T_{Bas} är den minsta möjliga temperaturen som behövs för att embryona ska utvecklas.

Formeln är baserad på medelvärden tagna från max- och minvärden, dessa medelvärden integreras sedan för att få ut arean under kurvan som är dygnsgrader.

Det finns olika sätt att tolka hur bastemperaturen (temperaturen där ingen utveckling sker) ska bestämmas eller användas, McMaster & Wilhelm (1997) tar upp de två vanligaste sätten att tolka uträkningen och användningen av T_{Bas} :

- (1) $[(T_{\text{Max}} + T_{\text{Min}}) / 2] < T_{\text{Bas}} \rightarrow [(T_{\text{Max}} + T_{\text{Min}}) / 2] = T_{\text{Bas}}$ och
- (2) $T_{\text{Max}} < T_{\text{Bas}} \rightarrow T_{\text{Max}} = T_{\text{Bas}}$ eller $T_{\text{Min}} < T_{\text{Bas}} \rightarrow T_{\text{Min}} = T_{\text{Bas}}$

Den första (1) ekvationen påvisar, att om medeltemperaturen för dagen är under bastemperaturen ska den teoretiska eller uppmätta bastemperaturen väljas för dagsmedeltemperaturen. Den andra (2) ekvationen påvisar, att om den högsta eller lägsta temperaturen under dagen är lägre än bastemperaturen ska den bytas ut med bastemperaturen innan integreringen.

Då T_{Bas} för vanlig groda är okänt, medförde det att ett teoretiskt värde för T_{Bas} räknades ut med "The least standard deviation in GDD method" enligt Yang *et al.* (1995).

$$T_{\text{Bas}} = \frac{\sum_{i=1}^n T_i d_i \sum_{i=1}^n d_i - n \sum_{i=1}^n d_i^2 T_i}{(\sum_{i=1}^n d_i)^2 - n \sum_{i=1}^n d_i^2}$$

Där T_{Bas} är bastemperaturen, T_i är medeltemperaturen för alla i :n äggsamlingar och d_i är antal dagar för i :n äggsamlingar att uppnå kläckning.

Den andra ekvationen (2) valdes för att implementera T_{Bas} , den användes som grund i denna studie då det var is på lokalerna under fem dygn (Personliga obs. 2017). Det antogs att bastemperaturen inte uppnåddes under dagarna det var is på lokalerna. Två alternativ följde av antagandet beroende på hur data såg ut; att T_{Bas} var 6°C som följd av ekvation (1) eller att T_{Bas} var 3°C som följd av ekvation (2).

Det andra alternativet (2) valdes, då det antogs passa in bäst på arten med tanke på att den nordamerikanska skogsgrodan (*Rana sylvatica*) har en bastemperatur på 2,5°C men det kan vara värt att nämna att den något mer sydliga leopardgrodan (*Rana pipiens*) har en bastemperatur mellan 5-8°C (Moore 1939). Vanlig groda i Sverige borde ha en liknande bastemperatur med tanke på att de lever i liknande förhållanden men på skilda kontinenter.

Resultaten från denna studie (Fält) jämfördes med resultaten från studier av Laugen *et al.* (2003) (Lab) och Carey *et al.* (2001) för att undersöka om dygnsgrader kan användas generellt på stjärtlösa groddjur och inte bara på vanlig groda.

Data användes från Laugen *et al.* (2003). De studerade embryon från vanlig groda i en skala av konstanta temperaturer som sträckte sig mellan 9 – 24°C. Data användes också från Carey *et al.* (2001). De studerade embryon från nordlig padda i dels konstanta temperaturer och dels i cykliska temperaturer som varierade under 12h perioder.

Då ursprungsdata från Carey *et al.* och Laugen *et al.* inte var tillgängligt, var en förenkling tvungen att genomföras. För att jämföra dessa två studier med den föreliggande räknades GDD ut genom att multiplicera medeltemperaturen med medeldagar till kläckning:

$GDD_{Carey}: 200^{\circ}D = 25^{\circ}C \times 8,00 \text{ Dagar}$

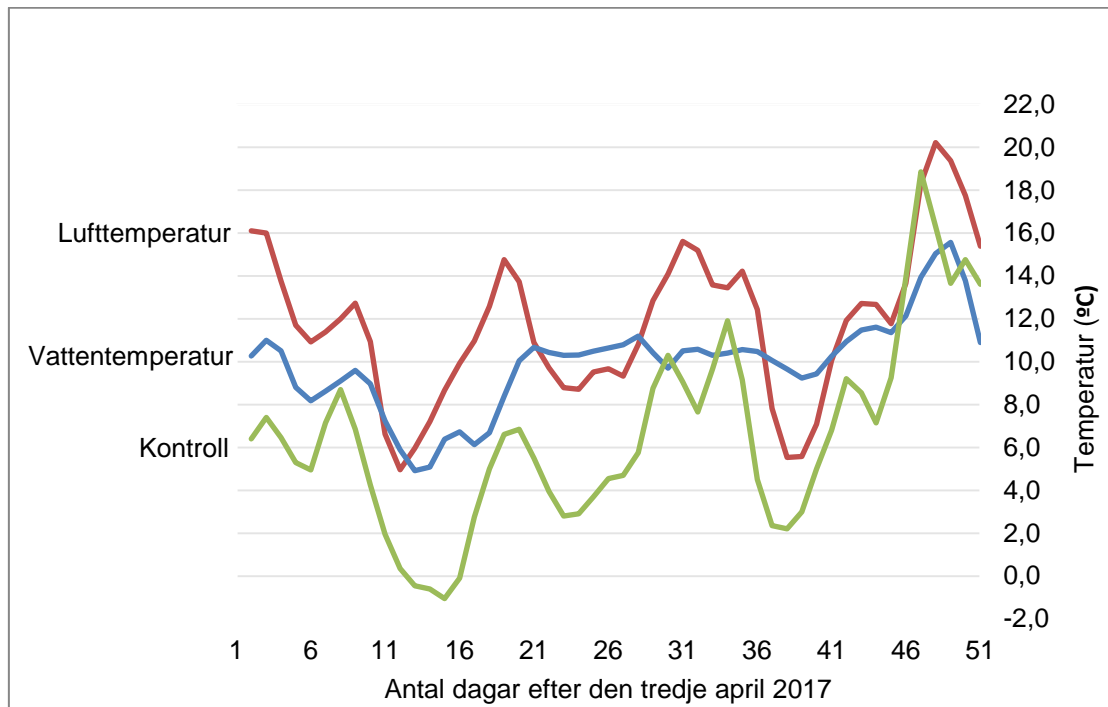
$GDD_{Laugen}: 195^{\circ}D = 16,5^{\circ}C \times 11,83 \text{ Dagar}$

Resultat

Data ifrån denna studie bearbetades på flera sätt, det första som gjordes var att jämföra insamlade temperaturer mot en kontrollstation för att fastställa om de var användbara. Medeltemperaturer för alla lokaler och de olika medierna (luft och vatten) uppmättes. Det visar att den aggregerade medellufttemperaturen för alla var mellan 4,45 - 20,63 °C med ett medelvärde på $11,85 \pm 3,73^{\circ}C$. Medelvattentemperaturen för alla lokaler var mellan 4,43 – 15,86°C med medelvärdet $9,91 \pm 2,27^{\circ}C$. Kontrolllokalen hade uppmätta temperaturer mellan -1,30 – 20,20°C och ett medelvärde på $6,61 \pm 4,62^{\circ}C$.

Lufttemperaturens toppar och dalar följer kontrollen dock 5°C över, som var förväntat med tanke på att lufttemperaturen mättes i soligt läge 10 cm över marken och kontrollen var 2 m över marken(antagligen i skugga).

Vattentemperaturerna ligger mellan de olika lufttemperaturerna, också det förväntat. Det var tre köldperioder under studien. Mellan den 15 och 19 april var den första kalla perioden, den andra och tredje var 22-28 april respektive 9-15 maj (Figur 1).



Figur 1. Glidande medelvärden(förskjutna en punkt till höger) som börjar vid den fjärde april över antal dagar för tre olika temperaturmätningar. Luft- och vattentemperatur är medeltemperaturer för alla lokaler. Kontroll är medeldygnstemperaturdata från mätstationen Uppsala Aut.

De tre köldperioderna medförde att det var is på vattensamlingarna. Det var is mellan den 15 – 19 april i lokal 1 och lokal 2. Fem stycken överlevande äggsamlingar påverkades av kylan i dessa lokaler och den embryonala utvecklingen antogs avstanna pga. de låga temperaturerna. Den andra köldperioden varade mellan den 22 – 28 april. Den påverkade inte lokal 1 och lokal 2 markant däremot påverkades lokal 4. Arten vanlig groda hade precis lagt de första äggsamlingarna i lokal 4 kvällen mot den 22 april. När det sedan blev kallt kvällen mot den 23 april antas utvecklingen av äggen ha avstannat pga. tempsänksningen.

Den sista köldperioden mellan den 9 – 15 maj påverkade lokal 3, 4 och 5. Det blev ingen isbildning under den tiden men utvecklingen kan ha avstannat eller saktats ned under en tid.

Köldknäpparna som var under våren påverkade den embryonala utvecklingen. Det är dock svårt att säga hur mycket utan att veta bastemperaturen. Den teoretiska bastemperaturen som räknades ut enligt Yang *et al.* (1995) var 8,55°C, den antogs vara felaktig då

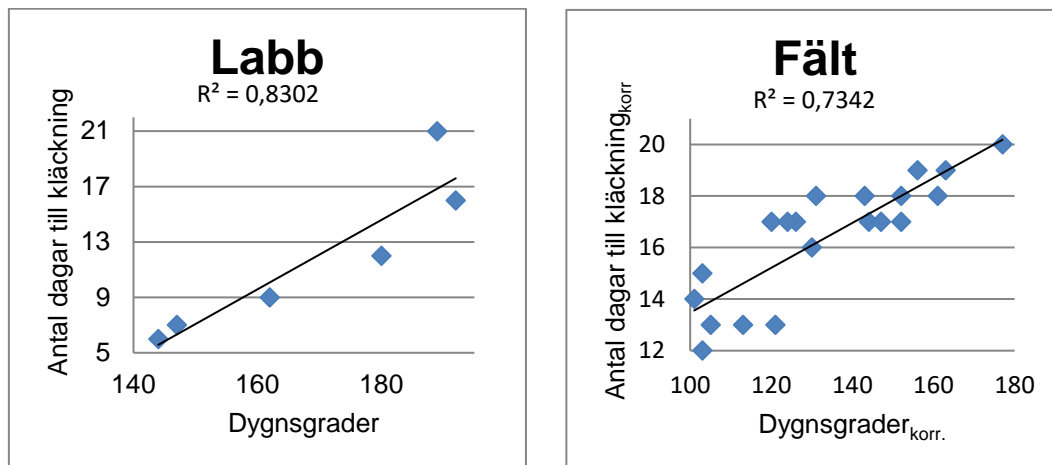
medelvattentemperaturen för alla lokaler var 8,08°C. En annan bastemperatur på 3°C valdes ut, då den passar bra in med bastemperaturen för *R. sylvatica* och *R. pipiens*, den passar även in i temperaturtrenden av nedisningen i lokal 1 och 2 och fördröjningen av den tidigast lagda äggsamlingen i lokal 4 (Figur 5). Det här valet medförde förändringar av uträkningen av GDD. All data herefter har bearbetats på följande sätt:

$$GDD_{korr.} = \sum_{Stadie\ 1}^{Stadie\ 25} \left(\frac{T_{Max} + T_{Min}}{2} \right)$$

Om $T_{Min} < T_{Bas}(3^{\circ}C)$ har den dagen inte varit med i uträkningar av "GDD_{korr.}" eller "Dagar till kläckning_{korr.}". Det medför att variationen av "GDD_{korr.}" inte är den lägsta då uträkningar med den teoretiska bastemperaturens variation ska vara lägst (Yang *et al.* 1995).

Korrigerade Fältdata jämfördes med data från Laugen *et al.* (2003) (Labb) genom att två regressionsanalyser gjordes. För Labb var förklaringsgraden 83 % och för Fält var den 73 %. Då R^2 – värdena inte skiljer sig med mer än 10 %, tycks spridningen inte vara tillräcklig för att skilja de båda data-seten åt. Labbdata hade ett spann mellan 6 – 21 dagar för att kläckas och en medeltemperatur på 16,50°C. Det medförde att medelvärdet för dygnsgrader för Labb var $169,00 \pm 21,01$, $c_v=12$ %.

Fältdata hade ett spann mellan 12 – 20 dagar för att kläckas och en medeltemperatur på 8,08°C, medelvärdet för dygnsgrader för Fält var $133,60 \pm 22,65$, $c_v=17$ % (Figur 2).

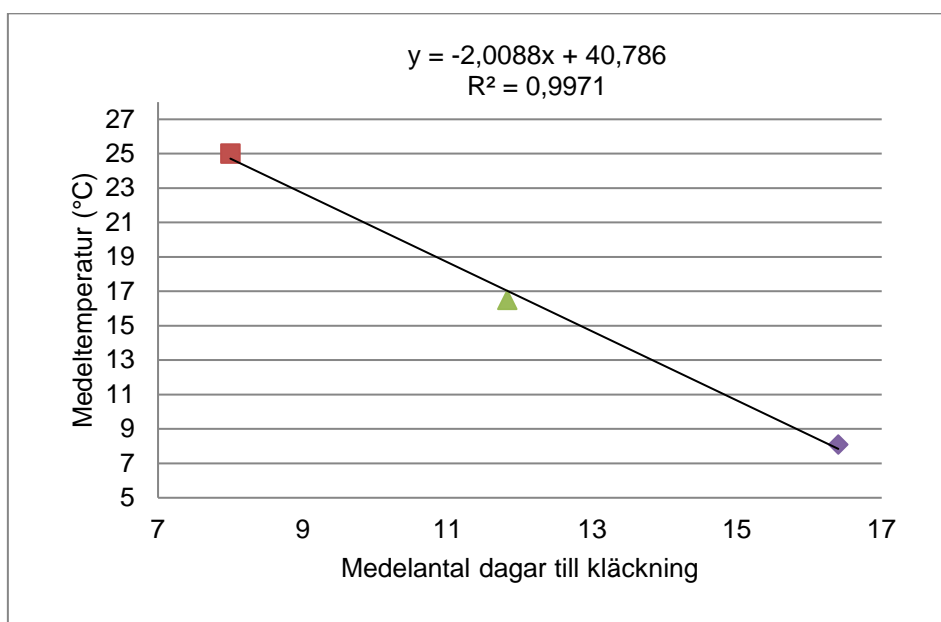


Figur 2. Labb är data tagen ifrån Laugen *et al.* (2003). Dygnsgrader räknades ut genom att multiplicera antal dagar till kläckning med den konstanta temperaturen äggsamlingen utvecklades i. Fält är korrigerade data från föreliggande studie.

Då data mellan Fält och Labb ser ut att vara likvärdiga undersöktes även data av en annan art från en annan temperaturregim för att se hur det

förhåller sig. Carey *et al.* (2001) undersökte den embryonala utvecklingshastigheten av nordlig padda vid olika temperaturer. Vid 30°C tog det sex dagar att kläckas och när temperaturen varierade mellan 10°C och 30°C (12h vardera) tog det 10 dagar att kläckas. I dygnsgrader motsvarar det 180°D respektive 200°D, det ger ett medelvärde på $190 \pm 20^\circ\text{D}$ $c_v=7\%$. De hade ytterligare två andra temperaturbehandlingar 10°C och 15°C, dessa uppnådde inte kläckning.

Enligt Rome *et al.* (1992) går den embryonala utvecklingen dubbel så snabbt vid en ökning av 10°C. För att testa om Fältdata, Labbdata och data ifrån Carey *et al.* (2001) följer detta fenomen plottades medeltemperaturen mot medeldagar till kläckning (Figur 3).



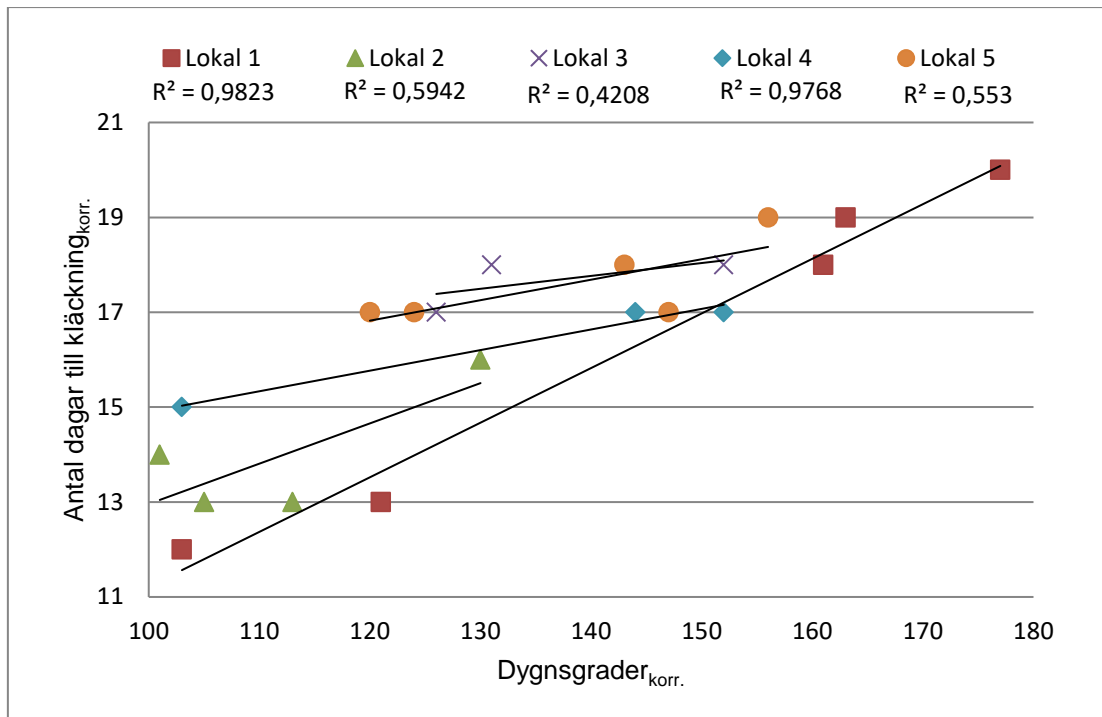
Figur 3. Medelantal dagar till kläckning ställdes upp mot medeltemperatur för: ■ = Carey *et al.* (2001) (*Bufo boreas*), ▲ = Laugen *et al.* (2003) (*R. temporaria* i Labb) och ◆ = föreliggande studie (*R. temporaria* i Fält). Detta ställdes upp för att undersöka om utvecklingen är dubbelt så snabb vid en temperaturökning med 10°C.

Lutningen på kurvan är: $x = -2,01$ och det ser ut att följa hypotesen som Rome *et al.* (1992) hade att den embryonala utvecklingen går dubbelt så snabbt vid en ökning av 10°C, eller som i detta fall: hälften så fort vid en minskning av 10°C (Figur 3).

En lokal uppdelning av äggsamlingar från föreliggande studie (Fält) i GDD_{kor} plottades mot antal dagar till kläckning_{kor}. för att se skillnader inom och mellan lokalerna.

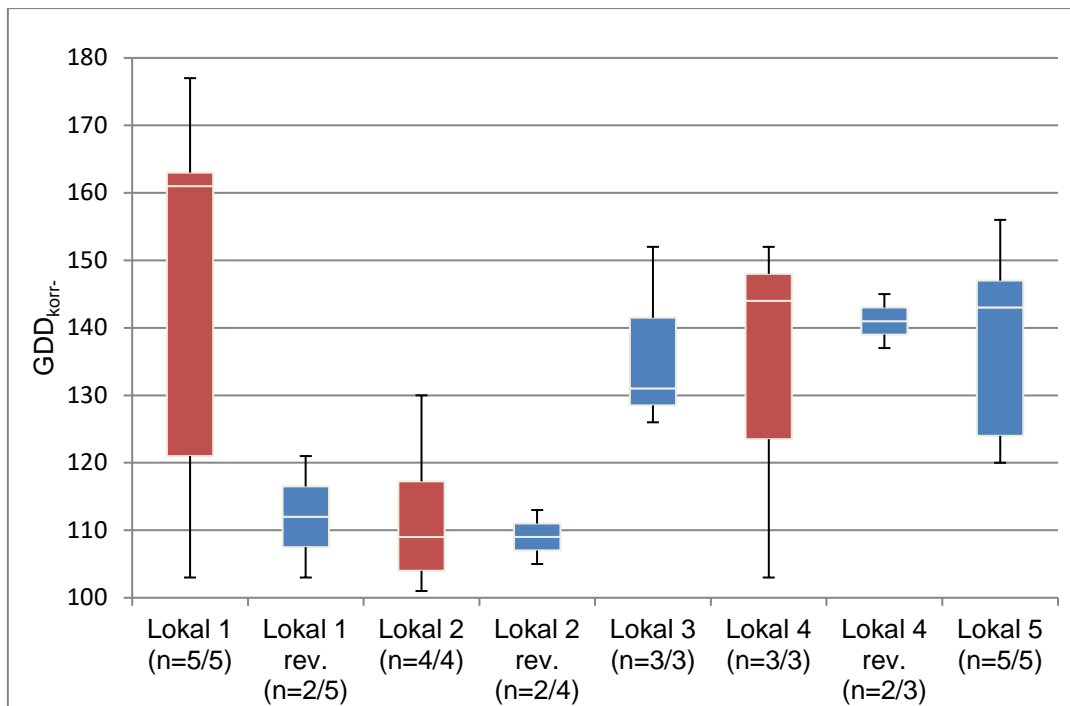
Lokal 1, 2 och 4 hade alla äggsamlingar som var påverkade av köldknäppar och det syns i spridningen inom lokalerna. Mellan lokalerna är det även en viss varians. Spridningen inom lokalerna stöder antagandet att de

individuella äggsamlingarna kan betraktas som oberoende observationer (Figur 4).



Figur 4. Regressionsanalys av Fältdata om hur $GDD_{korr.}$ förhåller sig mot antal dagar till kläckning_{korr.}. Där Lokal 1(kvadrat; $R^2=0,80$), Lokal 2(triangel; $R^2=0,59$), lokal 3(kryss; $R^2=0,42$), lokal 4(romb; $R^2=0,98$) och lokal 5(cirkel; $R^2=0,55$) är uppdelade efter lokaler.

För att enklare illustrera inom- och mellanlokalvariationen av äggsamlingar gjordes ett låddiagram som visar den lokala uppdelningen och hur äggsamlingarna förhåller sig till temperaturen. De tre röda lokalerna 1, 2 och 4 har reviderats. Äggsamlingarna som var korrigerade efter formeln för GDD har tagits bort pga. köldknäpparna som var under den embryonala utvecklingsperioden. Dessa påverkade äggsamlingar är inte med alls i de nya reviderade lokalerna 1, 2 och 4 (Figur 5).



Figur 5. Äggsamlingar (Fält) uppdelade i kvartiler efter lokaler och hur de förhåller sig till dygnsgrader. Äggsamlingar som har korrigerats pga. bastemperaturen inte uppnåddes har exkluderats i lokal 1, 2 och 4 reviderad (rev.). De röda lådorna är original och de blåa lådorna är lokaler med äggsamlingar som har exkluderats pga. icke uppnådd bastemperatur.

De reviderade lokalerna (sex exkluderade äggsamlingar) får ett nytt medelvärde för GDD: $131,21 \pm 17,88^{\circ}\text{D}$. Detta visar att om påverkade äggsamlingar (GDD_{Ex} ; antal dagar till kläckning $_{\text{Ex}}$) exkluderas ur studien minskar variationskoefficienten från $0,1695(\text{GDD}_{\text{kor.}})$ till $0,1362(\text{GDD}_{\text{Ex}})$. För antal dagar ökade variationskoefficienten från $0,1404_{\text{kor.}}$ till $0,1435_{\text{Ex}}$. De reviderade äggsamlingarna i lokal 1 och 2, öppna habitat med hög solexponeringsgrad kläcktes efter ungefär 110°D (129°D org.), äggsamlingarna i lokalerna 3-5 i skogshabitatet med låg till intermediär solexponeringsgrad kläcktes efter ungefär 140°D (136°D org.) (Figur 5).

Diskussion

Fältperioden våren 2017 hade varierande väder med tre köldperioder, dessa köldperioder var viktiga för studien, tack vare dem var det en bra spridning på temperaturer och avstanningar av den embryonala utvecklingen pga. ej uppnådd bastemperatur (Figur 1).

Den första köldperioden påverkade äggsamlingarna i lokal 1 och lokal 2 samt parningsceremonier i lokal 4 pga. isbildning. Det var kraftig alg tillväxt i lokal 1 som antagligen bidrog till ett varmare mikroklimat i vattnet p.g.a. respiration när det inte var is. Till följd av det utvecklades äggsamlingarna i lokal 1 fort, det kan bero på att algerna höll temperaturen uppe om nätterna (Figur 4, Figur 5).

Lokal 4 hade grodspel redan den 7 april och lokal 3 den 9 april. Om den första köldperioden med följande isbildning inte skett hade de troligtvis lagt ägg runt den 14-15 april. Temperaturerna sjönk kraftigt runt den 11 april vid lokal 3 och lokal 4 (Figur 1) och chockade antagligen grodorna som sysslade med parningsceremonier(sång och amplexus).

Äggen lades kvällen mot den 22 april, punkt (103,15) (Figur 4) och köldperioden varade mellan 23 – 30 april (Figur 1). Den andra köldperioden påverkade lokal 4 så den embryonala utvecklingen avstannade. Det var en stor samling av ägg ca: 40 äggsamlingar i lokal 4, vilket medförde att temperaturen i äggsamlingen var mycket högre än i den närliggande miljön, punkt (103,15) (Figur 4). De kan ha buffrat värmen och fortsatt utvecklingen trots de kalla temperaturerna i omgivningen (Håkansson & Loman 2004).

Skillnaden mellan Labb och Fält var tillräckligt liten för att fortsätta med jämförelserna mellan de, då skillnaden i c_v var 5 % och R^2 skillnaden var 10 % (Figur 2). Samt att studierna följde hypotesen att utvecklingshastigheten gick dubbelt så snabbt vid en ökning av 10°C (Rome *et al.* 1992, Figur 3).

Den uppmätta medeltemperaturen i den här studien skiljde sig mot Carey *et al.* (2001) och Laugen *et al.* (2003). Det fick som följd att $GDD_{korr.}$ var betydligt lägre än GDD_{Carey} och GDD_{Laugen} . Då syftet med denna studie var att undersöka om dygnsgrader kan appliceras på groddjur, kan det ses som att det fattas 4°C för att nå upp i liknande nivåer av GDD.
 $8,08^{\circ}\text{C} + 4,00^{\circ}\text{C} = 12,08^{\circ}\text{C} \rightarrow 12,08^{\circ}\text{C} \times 16,40 \text{ Dagar} = 198^{\circ}\text{D}.$

Den temperaturskillnaden kan bero på mätfel. Den vanliga grodans äggsamlingar flyter upp till ytan och ansamlar då mer värme än om de är nedsänkta under vattnet genom svartkroppseffekt och de aggregerar även äggsamlingarna som skogsgrodan i Nordamerika (Seale 1982). Termometergivarnas placering varierade, vissa var i den centrala delen av äggsamlingarna, andra var på 10cm djup bredvid äggsamlingarna. Det får till följd att temperaturen skiljer sig då det är varmare i mitten av äggsamlingarna pga. spillvärme från alla embryon (Håkansson & Loman 2004). Det kan bidra till en del av temperaturskillnaderna mellan denna och övriga studier.

Enligt Bina *et al.* (2015) är antal dagar till kläckning för vanlig groda i Sverige 9 – 13 dagar: det ger ett medelvärde på 11 ± 2 dagar, $c_v = 18$ %. Denna studie visade att antal dagar till kläckning för vanlig groda varierade mellan 12 – 24 dagar med ett medelvärde på $18,00 \pm 3,42$, $c_v = 19$ %. Föreliggande studie har ett tre gånger så stort intervall av antal dagar till kläckning än Bina

et al. (2015). Dock är c_v liknande mellan dessa två studier och data borde kunna jämföras.

Denna studies medelantal dagar till kläckning_{korrr.} var $16,4 \pm 2,30$, $c_v = 14 \%$ och medelantal dagar till kläckning_{Ex} var $16,1 \pm 2,23$, $c_v = 14 \%$. Eftersom c_v för antal dagar till kläckning_{korrr.} och -kläckning_{Ex} var lika, tyder det på att den korrigerade formeln som användes fungerade. Det var pga. variationen för medelantal dagar var lika oavsett om hela äggsamlingar eller specifika dagar exkluderades pga. uppnådd bastemperatur.

Revideringen med exkluderande äggsamlingar gjordes baserat på min hypotes; om c_v är lika för GDD_{korrr.} och GDD_{Ex} indikerar det att bastemperaturen som valdes är korrekt. De reviderade lokalerna med sex exkluderade äggsamlingar fick ett nytt medelvärde för dygnsgrader: $131,21 \pm 17,88$ °D mot de korrigerade dygnsgraderna $133,60 \pm 22,65$ °D (Figur 5). Då varianskoefficienten var mindre när hela äggsamlingar exkluderades (GDD_{Ex} = 14 %) jämfört med om enskilda dagar togs ur beräkningen av dygnsgrader (GDD_{korrr.} = 17 %) tyder det på bastemperaturen (3°C) var fel, då det var den enda avvikande variabeln.

Variationen för antal dagar till kläckning_{korrr.} är mindre än variationen för okorrigerade antal dagar till kläckning för Fält samt Bina *et al.* (2015): 14 % mot 19 % respektive 18 %.

Dessa siffror är baserade på Fältdata som låg inom temperaturspannet 6 – 10°C och är mer intressant på en populationsnivå, än som en övergripande metodanalys. Labbddata från Laugen *et al.* (2003) uppvisar ett annat mönster: Antal dagar, $c_v = 49 \%$ mot GDD, $c_v = 12 \%$. Det är bättre än i fallet för öring som minskade med 34,3 % (Gray 1928, Neuheimer & Taggart 2007). Detta tyder på att det är mer specifikt att använda sig av korrigerade data.

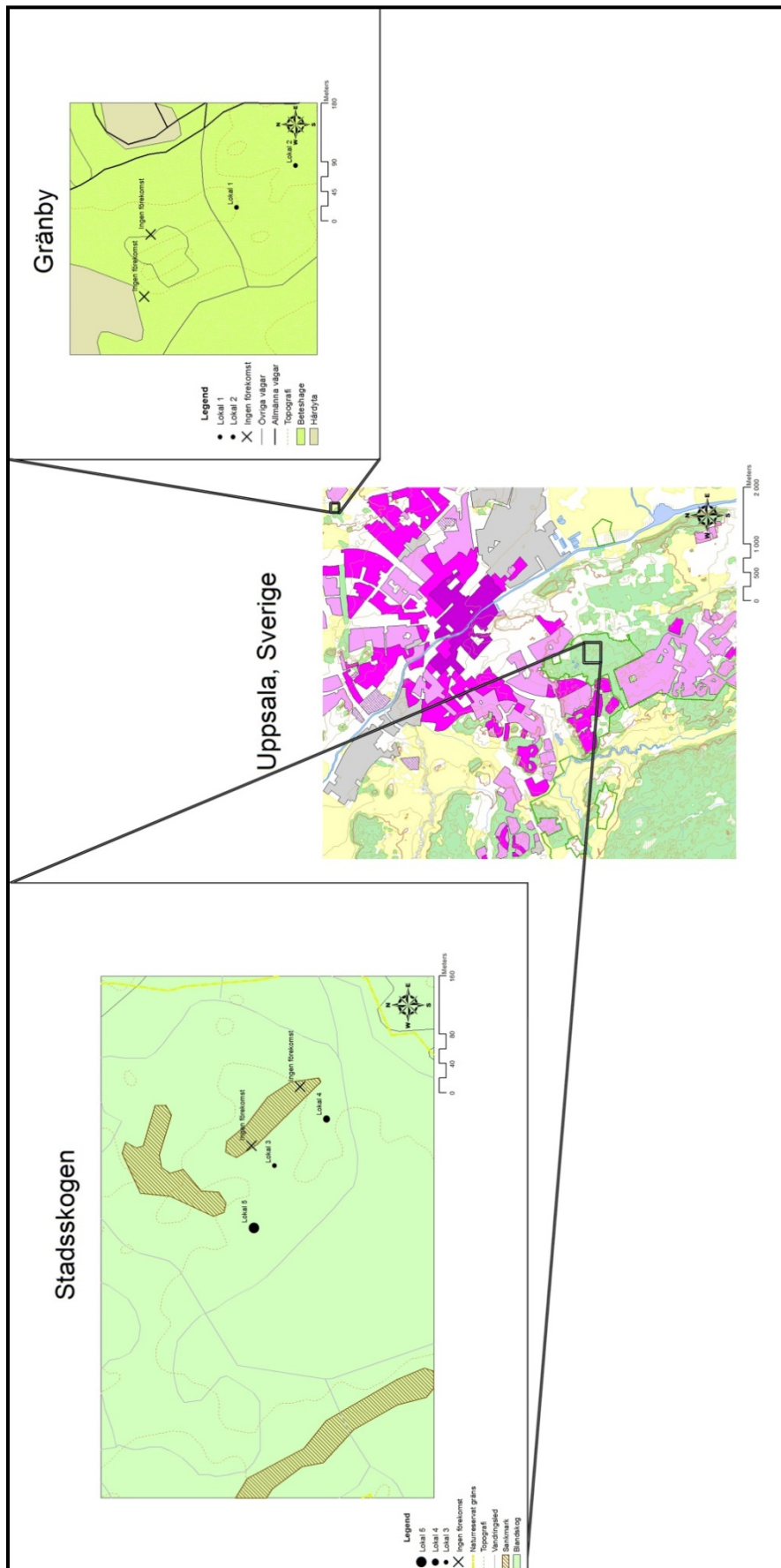
Resultaten i den här studien indikerar att dygnsgrader är ett användbart sätt att beräkna tiden till kläckning hos amfibier. En förutsättning är dock att det korrekta värdet för bastemperaturen är känt. Kommande studier bör experimentellt undersöka bastemperaturen för t.ex. vanlig groda. De bör även samla in fenologiska data som grodlek och tid för att uppnå livsstadier som kläckning och metamorfos med berörande temperaturdata. Dygnsgrader hos amfibier kan då vara ett mer precist verktyg, för att snabbare se klimatförändringar i naturen.

Referenser

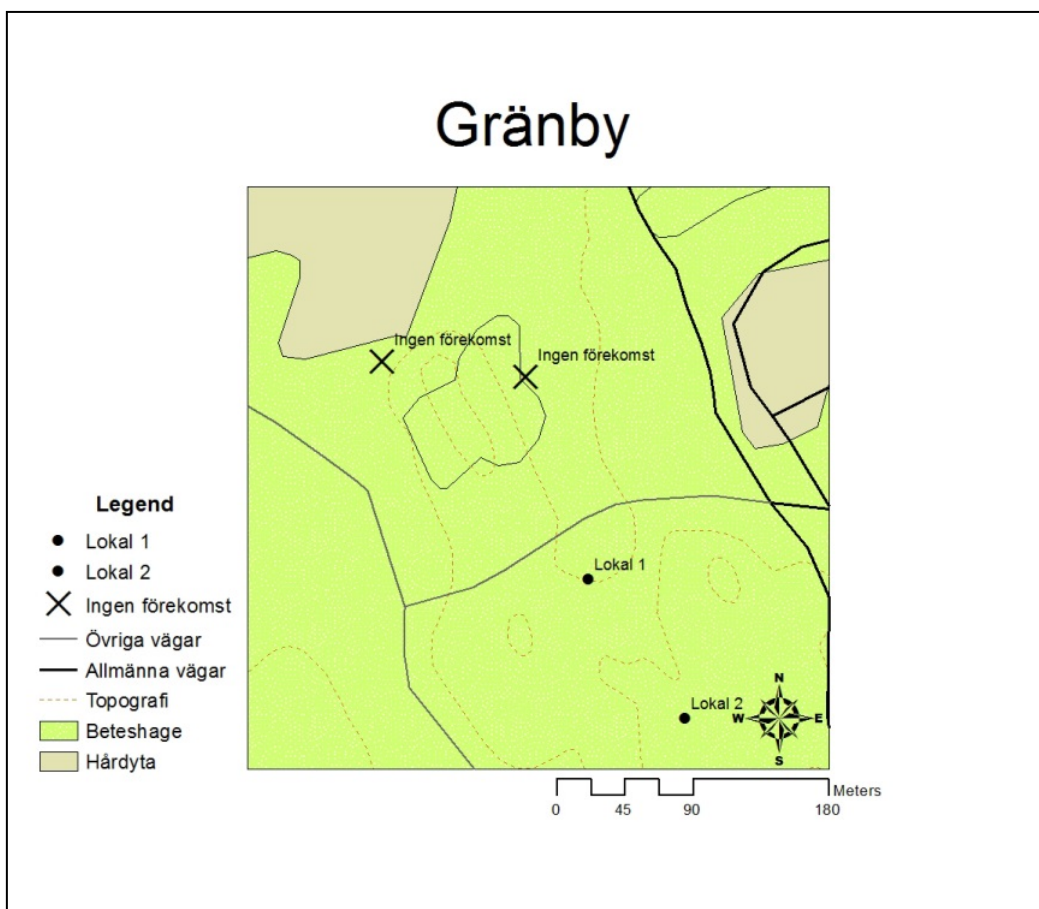
- Alderdice, D.F., & Velsen, F.P.J. 1978: Relation between temperature and incubation time for eggs of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). J. Res. Board Can; 35: 69-75.
- Beebee, T.J.C. 1995: Amphibian breeding and climate. Nature; 374: 219-220.
- Bina, P. (red.) 2015: Grodans år. Faunaväxteriet uppmärksammar Sveriges groddjur Amphibia. ArtDatabanken SLU, Uppsala.
- Carey, C., P. S. Corn., M. S. Jones., L. J. Livo., E. Muths., & C. W. Loeffler. 2001: Factors limiting the recovery of boreal toads (*Bufo b. boreas*). [Elektronisk]. Hämtad: 2017-07-15; <https://cpw.state.co.us/Documents/Research/Aquatic/pdf/Chapter31.pdf> University of California Press, Berkeley.
- Cross, HZ., & Zuber, M.S. 1972: Prediction of flowering dates in maize based on different methods of estimating thermal units. Agron. Journal; 64: 351-355.
- Fog, K., Schmedes, A., & de Lasson, D.R. 1997: Nordens padder og krybdyr. G.E.C. Gad, Copenhagen.
- Gosner, K. L. 1960: A simplified Table for Staging Anuran Embryos and Larvae with Notes on Identification. *Herpetologica* 1960; Vol 16, No.3: 183-190.
- Gray, J. 1928: The growth of fish. III. The effect of temperature on the development of eggs of *Salmo fario*. J. Exp. Biol; 6: 125-130.
- Håkansson, P., & Loman, J. 2004: Communal spawning in the common frog *Rana temporaria* – Egg temperature and predation consequences. Ethology; 110(9): 665-680.
- IPCC, AR4. 2007: Climate Change 2007: Working Group I: The Physical Science Basis. [Elektronisk]. Hämtad 2017-06-12: https://www.ipcc.ch/publications_and_data/ar4/wg1/en/ch3s3-es.html
- Johnson, D., Bessin, R., & Townsend, L. 1994: Predicting insect development using degree days. ENTFACT-123. University of Kentucky, College of Agriculture. [Elektronisk]. Hämtad 2017-08-14: <https://entomology.ca.uky.edu/files/efpdf1/ef123.pdf>
- Laugen, A.T., Laurila, A., & Merilä, J. 2003: Latitudinal and temperature-dependent variation in embryonic development and growth in *Rana temporaria*. Oecologia; 135: 548-554
- Loman, J. 2016: Breeding phenology in *Rana temporaria*. Local variation is due to pond temperature and population size. Ecology and Evolution; 6(17): 6202-6209.
- McMaster, G., & Wilhelm, W. 1997: Growing degree-days: one equation, two interpretations, Agricultural and Forest Meteorology; 87(4): 291-300.
- Moore, J. A. 1939: Temperature Tolerance and Rates of Development in the Eggs of Amphibia. Ecology, 20: 459–478.

- Neuheimer, A.B., & Taggart, C. 2007: The growing degree-day and fish size-at-age: the overlooked metric. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*; 64(2): 375-385.
- Parker, G. A. 1983: Mate quality and mating decisions. In: *Mate Choice* (Bateson, P. ed.). Univ. Press, Cambridge: 141-166.
- Parmesan, C. 1996: Climate and species' range. *Nature*; 382: 765-766.
- Rome, L.C., Stevens, E.D., & John-Alder, H.B. 1992: The influence of temperature and thermal acclimation on physiological function.
- Seale, D.B. 1982: Physical factors influencing oviposition by the woodfrog, *Rana sylvatica*, in Pennsylvania. *Copeia*; 3:627-635
- SLU Artdatabanken. 2017: [Elektronisk]. Hämtad: 2017-03-12; <https://www.artportalen.se/>
- SMHI Temperaturdata 2017: [Elektronisk]. Hämtad: 2017-06-28; <https://opendata-download-metobs.smhi.se/explore/?parameter=0#>
- Wells, K. D. 1977: The social behaviour of anuran amphibians. *Animal Behaviour*; 25: 666-693.
- Yang, S., Logan, J., & Coffey, L. D. 1995: Mathematical formulae for calculating the base temperature for growing degree days. *Agricultural and Forest Meteorology*; 74: 61-74
- Zalom, F.G., Goodell, P.B., Wilson, L.T., Barnett, W.W., & Bentley, W.J. 1983: Degree-days: the calculation and use of heat units in pest management. University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Leaflet 21373

Bilaga 1: Lokaler



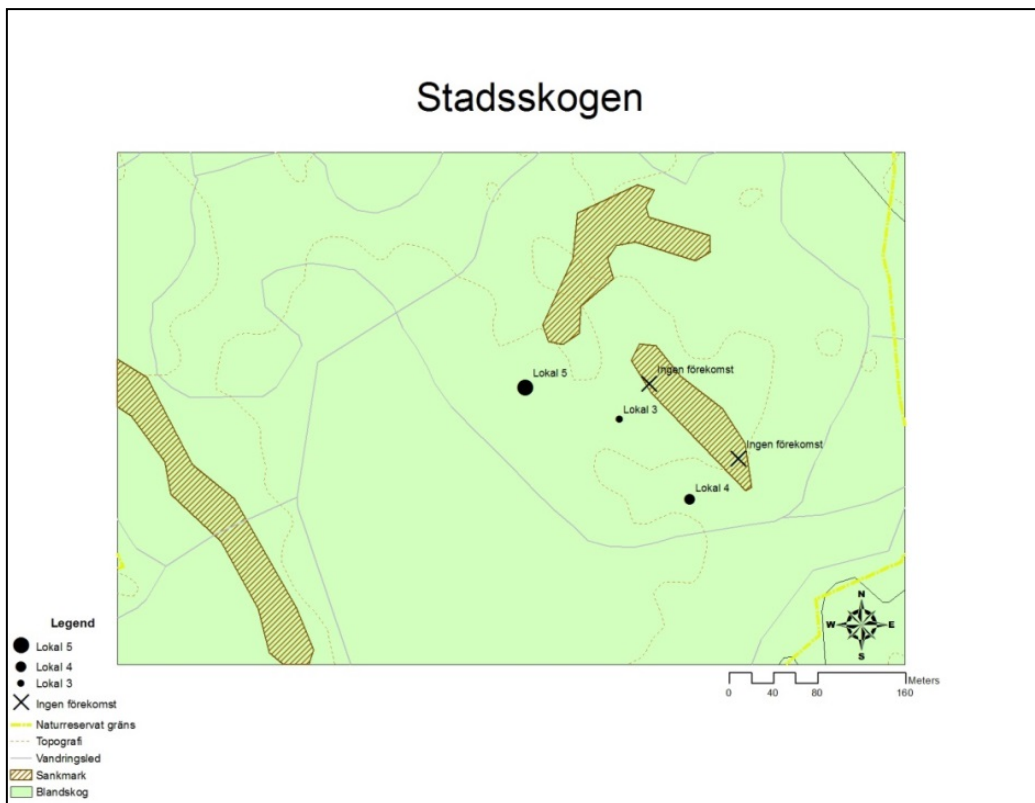
Karta 1. Översiktskarta över Uppsala med studielokalerna förstörade.



Karta 2. Karta över lokal 1 och -2, i den högexponerade beteshagen i Gränby.

Lokal 1 hade en uppskattad vattenspegel på 0,007 ha. Lokalen hade inga träd som överskuggade vattenspegeln och den hade en ren stenkrossbotten. Det medförde att vattnet hade en kraftig alg tillväxt. Lokal 1 antogs att ha de mest extrema temperatursvängningarna och var på så sätt en viktig lokal att ha med. Max djupet uppskattades till <1 m (Karta 2).

Lokal 2 hade ungefär en 0,012 ha stor vattenareal och hade viss skuggning i form av två träd i sydöst läge (morgon skuggning) samt ett pilträd i mitten av lokalen som skuggade en äggsamling fram till middag. Trots det togs lokalen med pga. det antogs att äggsamlingarna skulle läggas i norrkanten av lokalen där det var relativt exponerat, som de även gjorde. Max djupet uppskattades till ca: 1 m (Karta 2).



Karta 3. Karta över lokal 3, -4 och -5, i den lågexponerade skogen i Stadsskogen.

Lokal 3 hade en vattenspiegel på ungefär 0,005 ha. Lokalen hade träd runt hela lokalen i vattenkanten förutom i norrläge. Bottensubstratet var heltäckt av asplöv(mörkt substrat med värmebehållande förmågor). Lokalen hade ett uppskattat max djup på 0,5 m. Då lokalen låg i skogsmark antogs det att temperaturen skulle vara jämnare än de exponerade lokalerna och därmed intressant (Karta 3).

Lokal 4 hade en uppskattad vattenspiegel på 0,01 ha. Maxdjupet uppskattades att vara runt 0,5 m. Bottensubstratet var relativt ljust och bestod av gräs, mossor och barrester. Det var en trädridå kring nästan hela lokalen. Lokalen tänks skilja sig mot lokal 3 pga. en viss skillnad i exponeringsgrad och större areal (Karta 3).

Lokal 5 hade en vattenspiegel på ungefär 0,01 ha med ett uppskattat max djup på <2 m. Bottensubstratet var mörkt och såg ut att bestå av nedbrutet biologiskt material. Lokalen hade även en trädridå i sydläge men pga. den stora arealen var det solexponerat i nordnordväst läge där äggsamlingarna lades (Karta 3).